

УДК 616.314.17:616.311-006:615.454.1

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРА І НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗУБНОГО НАЛЬОТУ

Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдеріх, Р.С.Назарян, К.Ю.Спірідонова**

Національний фармацевтичний університет
Харківський національний медичний університет*

Ключові слова: риванол; низькоінтенсивне лазерне випромінювання; мікрофлора зубного нальоту

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF A PHOTSENSITIZER AND COMBINED EFFECTS OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION ON THE COMPOSITION OF THE MICROFLORA OF THE DENTAL PLAQUE

N.I.Filimonova, O.G.Geiderikh, R.S.Nazarian, K.Yu.Spiridonova**

*National University of Pharmacy, Kharkiv National Medical University**

Key words: ethacridine lactate; low-intensity laser radiation; the microflora of the dental plaque

The effect of low-intensity laser radiation (LILR) on the background of a photosensitizer (ethacridine lactate) on selective elimination of pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms has been studied. Taking into account antiseptic properties of ethacridine lactate the maximally possible time of influence of ethacridine lactate as a photosensitizer should be set. It has been found that after the influence of rivanol (ethacridine lactate) within 1.5-3 minutes the bactericidal action on microorganisms is observed. The effect of antiseptic in the interval from 30 to 60 seconds was not accompanied with the expressed quantitative change of the microbial population. The second stage of the research was identification of microorganisms sensitivity to various concentrations of the photosensitizer. As a photosensitizer the aqueous solution of ethacridine lactate in the concentrations of 0.1; 0.05; 0.01% was used. The results obtained allow to conclude that the concentration of 0.1% solution of ethacridine lactate increases the sensitivity of microorganisms to the effects of low-intensity laser radiation. During the experiment the combined impact of the antimicrobial activity of 0.1% solution of ethacridine lactate and blue spectrum laser radiation has been determined; it is manifested by decrease in the number of CFU/ml of the total microflora of the dental plaque. The number of CFU is reduced from $14.3 \pm 0.12 \times 10^3$ /ml up to $2.4 \pm 0.3 \times 10^2$ /ml after exposure (Table 1). Comparing the data of the control (the initial number of the colonies grown) and the experiment (the number of the colonies grown after the photoactivated disinfection) we have found that the antibacterial action of photoactivated disinfection depends directly on duration of exposure. Thus, the effectiveness of combined use of a photosensitizer with LILR is 1.2 times higher than that of ethacridine lactate (the exposure time is 60 seconds), and 2.0 times higher than the antimicrobial effect of the laser blue spectrum (the exposure time is 120 seconds).

Високе зростання показників поширеності та інтенсивності патології порожнини рота у вигляді гінгівітів, періодонтитів, карієсу зубів у дітей і дорослих виводить проблему їх лікування і попередження на перший план у сучасній одонтології. Останнім часом на особливу увагу заслуговує така патологія як карієс, здатний призвести до розвитку алергічних реакцій, порушень з боку кровоносної системи, зниження жувальної функції, видалення зубів і, як результат, виникнення

патології ШКТ. Нині провідне місце в розвитку карієсу належить мікроорганізмам, що заселяють ротову порожнину. Згідно з даними літератури більше 70% мікроорганізмів припадає на стрептококи, 15% – на вейлонели і нейсерії, інша складова мікрофлори – дифтероїди, лактобактерії, стафілококи, лептотрихії, фузобактерії, актиноміцети, дріжджоподібні гриби та ін. [2, 4, 9, 10].

Згідно з сучасною теорією виникнення карієсу карієсогенні мікроорганізми порожнини

рота при ферментації низькомолекулярних вуглеводів виробляють органічні кислоти, що призводить до зниження рівня рН і як наслідок – до прогресуючої демінералізації тканин зубів. Великий спектр антимікробних препаратів, що існують на теперішній час і використовуються в т.ч. в одонтології, має ряд побічних ефектів: їх використання призводить до масового знищення мікрофлори усього біотопу порожнини рота і селекції стійких штамів мікроорганізмів [1, 3, 8, 11, 12]. В останні декілька років введено використання нового методу антимікробної терапії – фотоактивованої дезінфекції (ФАД), яка ґрунтується на селективному знищенні патогенної мікрофлори,

Н.І.Філімонова – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Р.С.Назарян – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри стоматології дитячого віку, дитячої щелепно-лицьової хірургії та імплантології Харківського національного медичного університету

сенсibilізованої спеціальним препаратом і активованої лазерним світлом з певною довжиною хвилі [5-7, 13].

Метою роботи було вивчення *in vitro* впливу комбінованої дії фотосенсibilізатора і низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) на рівень антимікробної дії відносно патогенної мікрофлори зубного нальоту.

Матеріали та методи

Матеріал для досліджень відбирали у 20 пацієнтів без супутньої соматичної патології віком 6-7 років з різним рівнем розвитку карієсу. Забір матеріалу робили з використанням стандартних стоматологічних інструментів.

Вивчення дії лазерного випромінювання. Сукупну мікрофлору корневих каналів вносили в цукровий бульйон у співвідношенні 1:10. Для кількісної оцінки результатів з отриманої суспензії мікродозатором відбирали 0,05 мл, робили посів на чашки Петрі на поверхню 5%-вого кров'яного агару, одна з яких служила контролем, а інші піддавалися дії лазерного випромінювання в різних режимах. Після опромінення вміст краплі ретельно розсіювали шпателем по поверхні поживного середовища. Посіви інкубували в термостаті при температурі 37°C протягом 36-48 годин, після чого підраховували число колоній, що вирости.

Вивчення дії фотосенсibilізатора. Мікрофлору корневих каналів емульгували в 0,9 мл цукрового бульйону. Мікродозатором відбирали 0,05 мл, висівали на чашку з 5%-вим кров'яним агаром. Цей висів служив контролем. Після цього в пробірку вносили 0,1 мл 0,1%-вого розчину риванолу (етакридину лактату).

Після закінчення часу експозиції (1-3 хв) етакридину лактату з мікробними клітинами мікродозатором переносили су-

спензію в об'ємі 0,05 мл в пробірці з 1 мл цукрового бульйону. При цьому концентрація етакридину лактату зменшувалася в 20 разів, що виключало надалі антимікробну дію навіть 1%-вого розчину риванолу. З цієї пробірки 0,05 мл суспензії висівали на чашки з 5%-вим кров'яним агаром. Чашки поміщалися в термостат при 37°C на 24-36 годин, після чого визначали наявність та інтенсивність росту.

Вивчення ФАД. Сукупну мікрофлору зубного нальоту вносили в 0,9 мл цукрового бульйону. У пробірку вносили 0,1 мл риванолу з таким розрахунком, щоб отримати кінцеву концентрацію 0,1%. До внесення етакридину лактату і після закінчення часу експозиції (час сенсibilізації) з пробірки мікродозатором відбирали суспензію в об'ємі 0,05 мл і вносили на поверхню чашки з 5 %-вим кров'яним агаром.

Дослідні чашки Петрі піддавали опроміненню НІЛВ. Тривалість дії складала 30, 60 і 120 секунд. Після опромінення матеріал ретельно розподілявся шпателем по поверхні агару. Чашки поміщали в термостат на 36-48 годин при 37°C, після чого підраховували число колоній, що вирости. Порівнюючи дані контролю (початкове число до додавання фотосенсibilізатора) і досліду (після опромінення фотосенсibilізованих клітин), можна судити про дію лазерного випромінювання на сенсibilізовану риванолом мікрофлору зубного нальоту.

Сукупну мікрофлору зубного нальоту обробляли композицією фотосенсibilізатора і НІЛВ. Після цього їх витримували впродовж часу, необхідного для ефективного зв'язування композиції з клітинами мікроорганізмів (60 с). Потім на вказану область впродовж 60 і 120 с впливали оптичним випромінюванням з довжиною хвилі 445 нм, що відповідало максимуму поглинан-

ня фотосенсibilізатора, і щільністю потужності 100 мВт/см², необхідною для активації композиції.

Облік результатів проводили шляхом підрахунку числа колонієутворюючих одиниць (КУО) через 24-72 години інкубації при 37°C. Контролем служили суспензії бактерій, не оброблені сенсibilізатором і не піддані опроміненню.

Для статистичної обробки отриманих результатів дослідження був використаний пакет застосованих програм STATISTICA 6.0 фірми StatSoft Inc. для персонального комп'ютера в системі Windows.

Результати та їх обговорення

Склад мікрофлори зубного нальоту у клінічно здорових пацієнтів і у пацієнтів із запаленням періодонтальних тканин має значні відмінності, що пов'язують, передусім, з тим, що видова специфічність мікроорганізмів непостійна і залежить як від ендогенних, так і від екзогенних чинників. Особливий інтерес представляє співвідношення патогенних і непатогенних мікроорганізмів. У проведеному дослідженні вивчали вплив НІЛВ на тлі фотосенсibilізатора (етакридину лактату) на селективну елімінацію патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів.

Враховуючи те, що етакридину лактату притаманні властивості антисептика, слід було встановити максимально можливий час дії етакридину лактату як фотосенсibilізатора. Встановлено, що після дії риванолу (етакридину лактату) протягом 1,5-3-х хвилин відзначалася бактерицидна дія на мікроорганізми. Дія ж антисептика в проміжку від 30 до 60 с не супроводжувалася вираженою кількісною зміною мікробної популяції.

Другим етапом дослідження стало визначення чутливо-

Таблиця

Порівняльна характеристика впливу комбінованої дії фотосенсибілізатора і низькоінтенсивного лазерного випромінювання на чутливість мікроорганізмів, n=6

КУО /мл			
Контроль	Фактор впливу / Експозиція, секунди		
	етакридину лактат (60 с)	НІЛВ (120 с)	етакридину лактат + НІЛВ (120 с)
6,2±0,14 × 10 ³	2,1±0,07 × 10 ³	6,2±0,09 × 10 ³	3,6±0,2 × 10 ²
14,3±0,12 × 10 ³	5,7±0,13 × 10 ³	14,5±0,2 × 10 ³	2,4±0,3 × 10 ²
7,9±0,1 × 10 ³	3,1±0,04 × 10 ³	7,8±0,13 × 10 ³	2,6±0,2 × 10 ²
5,2±0,08 × 10 ³	4,0±0,07 × 10 ³	5,1±0,07 × 10 ³	5,2±0,14 × 10 ²
11,8±0,2 × 10 ³	8,2±0,03 × 10 ³	11,9±0,1 × 10 ³	4,2±0,14 × 10 ²
6,5±0,25 × 10 ³	5,2±0,07 × 10 ³	6,7±0,17 × 10 ³	3,8±0,26 × 10 ²
8,3±0,17 × 10 ³	5,3±0,06 × 10 ³	8,0±0,307 × 10 ³	5,1±0,24 × 10 ²
6,0±0,19 × 10 ³	2,3±0,04 × 10 ³	4,5±0,1 × 10 ³	3,2±0,28 × 10 ²
5,9±0,09 × 10 ³	3,1±0,11 × 10 ³	6,0±0,1 × 10 ³	3,1±0,15 × 10 ²
7,9±0,04 × 10 ³	5,6±0,05 × 10 ³	8,2±0,04 × 10 ³	4,2±0,14 × 10 ²
6,8±0,13 × 10 ³	2,4±0,3 × 10 ³	5,4±0,06 × 10 ³	2,8±0,1 × 10 ²
7,2±0,11 × 10 ³	3,8±0,02 × 10 ³	6,9±0,17 × 10 ³	3,0±0,09 × 10 ²
12,3±0,14 × 10 ³	4,6±0,07 × 10 ³	5,2±0,08 × 10 ³	2,7±0,13 × 10 ²
5,6±0,09 × 10 ³	3,5±0,12 × 10 ³	6,1±0,09 × 10 ³	4,1±0,2 × 10 ²
6,7±0,2 × 10 ³	4,2±0,11 × 10 ³	5,3±0,05 × 10 ³	3,2±0,13 × 10 ²
7,6±0,12 × 10 ³	5,7±0,03 × 10 ³	7,9±0,12 × 10 ³	4,6±0,1 × 10 ²
8,6±0,15 × 10 ³	6,8±0,1 × 10 ³	9,2±0,1 × 10 ³	3,3±0,26 × 10 ²
9,3±0,16 × 10 ³	4,1±0,06 × 10 ³	5,3±0,05 × 10 ³	4,4±0,16 × 10 ²
11,4±0,13 × 10 ³	7,2±0,12 × 10 ³	10,9±0,13 × 10 ³	5,2±0,12 × 10 ²
5,8±0,1 × 10 ³	3,4±0,2 × 10 ³	5,7±0,08 × 10 ³	4,4±0,21 × 10 ²

Примітка. n – кількість повторів.

сті мікроорганізмів до різних концентрацій фотосенсибілізатора. Використали водний розчин етакридину лактату з концентраціями 0,1; 0,05; 0,01%. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що роз-

чин етакридину лактату в концентрації 0,1% підвищує чутливість мікроорганізмів до дії НІЛВ.

У ході проведеного експерименту було встановлено антимікробну дію комбінованого впливу 0,1%-вого розчину ета-

кридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра, що проявляється зниженням числа КУО/мл сукупної мікрофлори зубного нальоту. В середньому кількість КУО знижується зі значення 14,3±0,12×10³/мл до значення 2,4±0,3×10² мл після опромінення (табл.).

Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) і досліду (число колоній, що виростили після проведення фотоактивованої дезінфекції), ми встановили, що антимікробна дія фотоактивованої дезінфекції знаходиться в прямій залежності від тривалості опромінення.

Так, ефективність комбінованого використання фотосенсибілізатора з НІЛВ в 1,2 рази перевищує активність етакридину лактату (час експозиції 60 с) і в 2,0 рази перевищує антимікробний ефект лазерного випромінювання синього спектра (час експозиції 120 с).

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані у рамках проведеного експерименту результати свідчать про виражену антимікробну дію лазерного випромінювання синього спектра на мікрофлору зубного нальоту, сенсibiliзовану розчином етакридину лактату, що дозволяє обґрунтувати можливість елімінації патогенної мікрофлори порожнини рота саме таким методом і вимагає його подальшого вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барер Г.М., Зорян Е.В., Агапов В.С. и др. Рациональная фармакотерапия в стоматологии: Руковод. для практикующих врачей / Под общ. ред. Г.М.Барера, Е.В.Зорян. – М.: Литтерра, 2006. – 568 с. (Рациональная фармакотерапия: Сер. руковод. для практикующих врачей. Т. 11).
2. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учеб. пособие. – Нижний Новгород: НГМА, 2004. – 158 с.
3. Козлов Р.С. // Клини. микробиол. антимикроб. химиотерапии. – 2010. – Т. 12, №4. – С. 284-294.
4. Микробная флора полости рта: пути заселения, распространения, распределения по биотопам полости рта в норме и при патологии // Стоматол. обозрение. – 2004. – №1. – С. 7-10.
5. Москвин С.В., Амирханян А.Н. Методы комбинированной и сочетанной лазерной терапии в стоматологии. – М. – Тверь: ООО Триада, 2011. – 208 с.
6. Наумович С.А., Плавский В.Ю., Петров П.Т., Кувшинов А.В. // Современная стоматол. – 2007. – №2. – С. 27-29.
7. Ніколішин А.К., Сідаш Ю.В., Федорченко В.І. // Укр. стоматол. альманах. – 2010. – №2, Ч. 2. – С. 35-39.

8. Решедько Г.К., Козлов Р.С. Состояние резистентности к антиинфекционным химиопрепаратам в России: Практик. руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С.Страчунского, Ю.Б.Белюсова, С.Н.Козлова. – Смоленск: МАКМАХ, 2007. – С. 32-46.
9. Табаева А.А. Микробиология поражений полости рта при стоматологических и инфекционных заболеваниях: Учеб. пособие. – Алматы, 2006. – 127 с.
10. Царёв В.Н., Абакаров С.И., Умарова С.Э. // *Стоматол.* – 2008. – №1. – С. 55-57.
11. Laxminarayan R., Duse A., Wattal C. et al. // *Lancet Infect. Dis.* – 2013. – №12. – P. 1057-1098.
12. Powers J.H. // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2004. – Suppl. 4. – P. 23-31.
13. Simon A. Low level laser therapy for wound healing: An update. Information Paper. IP 22. Edmonton, AB: Alberta Heritage Foundation for Medical Research (AHFMR). – 2004. – P. 1-34.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРА І НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗУБНОГО НАЛЬОТУ

Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдеріх, Р.С.Назарян*, К.Ю.Спіридонова*

Національний фармацевтичний університет, Харківський національний медичний університет*

Ключові слова: риванол; низькоінтенсивне лазерне випромінювання; мікрофлора зубного нальоту

У проведеному дослідженні вивчали вплив НІЛВ на тлі фотосенсибілізатора (етакридину лактату) на селективну елімінацію патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Враховуючи те, що етакридину лактату притаманні властивості антисептика, слід було встановити максимально можливий час дії етакридину лактату як фотосенсибілізатора. Встановлено, що після дії риванолу (етакридину лактату) протягом 1,5-3-х хвилин відзначалася бактерицидна дія на мікроорганізми. Дія ж антисептика в проміжку від 30 до 60 с не супроводжувалася вираженою кількісною зміною мікробної популяції. Другим етапом дослідження стало визначення чутливості мікроорганізмів до різних концентрацій фотосенсибілізатора. Використали водний розчин етакридину лактату у концентраціях 0,1; 0,05; 0,01%. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що розчин етакридину лактату в концентрації 0,1% підвищує чутливість мікроорганізмів до дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання. В ході проведеного експерименту було встановлено антимікробну дію комбінованого впливу 0,1%-вого розчину етакридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра, що проявляється зниженням числа КУО/мл сукупної мікрофлори зубного нальоту. Кількість КУО знижується зі значення $14,3 \pm 0,12 \times 10^3$ /мл до значення $2,4 \pm 0,3 \times 10^2$ мл після опромінення. Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) і досліду (число колоній, що виростили після проведення фотоактивованої дезінфекції), ми встановили, що антимікробна дія фотоактивованої дезінфекції знаходиться в прямій залежності від тривалості опромінення. Так, ефективність комбінованого використання фотосенсибілізатора з НІЛВ в 1,2 рази перевищує активність етакридину лактату (час експозиції – 60 с) і в 2,0 рази перевищує антимікробний ефект лазерного випромінювання синього спектра (час експозиції – 120 с).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ЗУБНОГО НАЛЕТА

Н.И.Филимонова, О.Г.Гейдерих, Р.С.Назарян*, К.Ю.Спиридонова*

Национальный фармацевтический университет, Харьковский национальный медицинский университет*

Ключевые слова: риванол; низкоинтенсивное лазерное излучение; микрофлора зубного налета

В проведенном исследовании изучали влияние НИЛИ на фоне фотосенсибилизатора (этакридина лактата) на селективную элиминацию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Учитывая то, что этакридина лактата присущи свойства антисептика, следовало установить максимально возможное время воздействия этакридина лактата как фотосенсибилизатора. Установлено, что после воздействия риванола (этакридина лактата) в течение 1,5-3-х минут отмечалось бактерицидное действие на микроорганизмы. Воздействие антисептика в промежутке от 30 до 60 с не сопровождалось выраженным количественным изменением микробной популяции. Вторым этапом исследования стало определение чувствительности микроорганизмов к различным концентрациям фотосенсибилизатора. Использовали водный раствор этакридина лактата с концентрациями 0,1; 0,05; 0,01%. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что раствор этакридина лактата в концентрации 0,1% повышает чувствительность микроорганизмов к действию низкоинтенсивного лазерного излучения. В ходе проведенного эксперимента было установлено антимикробное действие комбинированного влияния 0,1%-ого раствора этакридина лактата и лазерного излучения синего спектра, что проявляется снижением числа КОЕ/мл совокупной микрофлоры зубного налета. Количество КОЕ снижается со значения $14,3 \pm 0,12 \times 10^3$ /мл до значения $2,4 \pm 0,3 \times 10^2$ мл после облучения. Сопоставляя данные контроля (исходное число выросших колоний) и опыта (число колоний, выросших после проведения фотоактивированной дезинфекции), мы установили, что антимикробное действие фотоактивированной дезинфекции находится в прямой зависимости от длительности облучения. Так, эффективность комбинированного использования фотосенсибилизатора с НИЛИ в 1,2 раза превышает активность этакридина лактата (время экспозиции – 60 с) и в 2,0 раза превышает противомикробный эффект лазерного излучения синего спектра (время экспозиции – 120 с).

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел. (57) 706-30-67. E-mail: mikrobiology@ukrfa.kharkov.ua.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 24.09.2014 р.